

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK-AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problems Mailbox.**

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—72598

⑪ Int. Cl.<sup>3</sup>  
C 07 H 3/02

識別記号

庁内整理番号  
7252—4C

⑬ 公開 昭和58年(1983)4月30日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 7 頁)

## ⑭ 高純度イソマルトースの製造方法

岡山県赤磐郡瀬戸町江尻旭ヶ丘  
1丁目3番地の41

⑯ 特 願 昭56—171179

⑰ 発 明 者 渋谷孝

⑱ 出 願 昭56(1981)10月26日

総社市下原318番地

⑲ 発 明 者 三宅俊雄

⑳ 出 願 人 株式会社林原生物化学研究所

岡山市奉還町3丁目1番16号

岡山市下石井1丁目2番3号

㉑ 発 明 者 堺修造

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

高純度イソマルトースの製造方法

## 2. 特許請求の範囲

- (1) イソマルトース含有糖液をアルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂を充填したカラムに流し、次いで水で溶出してイソマルトース高含有画分を採取することを特徴とする高純度イソマルトースの製造方法。
- (2) イソマルトースを固形物当り7%以上含有する糖液をアルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂を充填したカラムに流し、次いで水で溶出してイソマルトース固形物当り40%以上含有するイソマルトース高含有画分を採取することを特徴とする特許請求の範囲第(1)項記載の高純度イソマルトースの製造方法。
- (3) イソマルトースを固形物当り7%以上含有する糖液をアルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂を充填したカラム

に流し、次いで水で溶出してイソマルトデキストリン高含有画分、イソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分、イソマルトース高含有画分、イソマルトース・グルコース高含有画分、グルコース高含有画分の順に分画し、イソマルトースを固形物当り40%以上含有するイソマルトース高含有画分を採取することを特徴とする特許請求の範囲第(1)、(2)項記載の高純度イソマルトースの製造方法。

- (4) イソマルトース含有糖液として、グルコアミラーゼによるグルコース逆合成生成物、 $\alpha$ -グルコシダーゼによるグルコース転移生成物またはデキストランの部分加水分解物を用いることを特徴とする特許請求の範囲(1)、(2)、(3)項記載の高純度イソマルトースの製造方法。
- (5) グルコアミラーゼに固定化酵素を用いることを特徴とする特許請求の範囲第(4)項記載の高純度イソマルトースの製造方法。
- (6) カチオン交換樹脂として、全長が7m以上に充填したカラムを用いることを特徴とする特許

液とほぼ同糖組成になり、原糖液として使用しうることが判明した。この方法を採用することにより、原料のグルコースは、高純度イソマルトースに実質的に完全に交換しうることが判明した。

#### 実施例 5

実験で示した方法で調製したイソマルトース含有量 25.5% のグルコース逆合成生成物（濃度 60 w/w %）を原糖液とした。

樹脂は、アルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂（ローム & ハース社製造、商品名アンバーライト CG-120、Ca<sup>++</sup>型）を使用し、実施例 1 で使用したカラムに、樹脂層全長が 10 m になるように充填した。カラム内温度を 80℃ に維持しつつ原糖液を樹脂に対して第 1 回目の分画に際しては 15 v/v % 加え、これに 80℃ の温水を SV 0.6 の流速で流して分画し、実施例 4 の場合と同様に図に示される分画パターンを得た。

分画品 C（イソマルトース高含有画分）は採取した。分画品 A 及び E は集めて濃度 60 w/w % に

得た。

本品には、イソマルトース 65.3%、イソマルトリオース、イソマルトテトラオースなどのイソマルトデキストリン 22.7% を含有していた。

#### 4. 図面の簡単な説明

第 1 図は原糖液の溶出パターンの一例を示す図である。図中の記号 A はイソマルトデキストリン高含有画分、B はイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分、C はイソマルトース高含有画分、D はイソマルトース・グルコース高含有画分、及び E はグルコース高含有画分を示す。

第 2 図は、グルコースから高純度イソマルトースを製造する工程の一例を示す図である。

図中の記号 A、B、C、D 及び E は、第 1 図と同様に溶出パターンの各画分を示す。G はグルコースを、GA はグルコアミラーゼによる反応を、S は原糖液を、R は樹脂による分画を、V は濃縮を、P は高純度イソマルトース製品を示す。

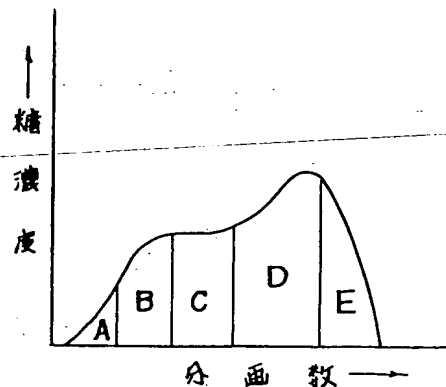
濃縮し、固定化グルコアミラーゼを作用させ、原糖液の糖組成とほぼ同程度にして原糖液に戻した。

第 2 回目以降の分画は、同じカラムに分画品 B、次いで樹脂に対して約 7 v/v % の原糖液、分画品 D の順に加え、更に 80℃ の温水を SV 0.6 の流速で流してイソマルトース含有量 60% 以上のイソマルトース高含有画分を採取した。

本実施例の工程を第 2 図に示した。第 2 図における A、B、C、D 及び E は、第 1 図と同様に溶出パターンの各画分を示す。G はグルコースを、GA はグルコアミラーゼによる反応を、S は原糖液を、R は樹脂による分画を、V は濃縮を、P は高純度イソマルトース製品を示す。

第 2 回目以降の分画操作を延べ 200 回繰り返して、1 回当りの平均結果を求めたところ、イソマルトース高含有画分には、イソマルトースが 256 g 含まれ、原糖液中のイソマルトースに対して 83.4% の高収率であった。本画分 200 回分を集め、実施例 3 と同様に処理して粉末 77 kg を

図 1



って、例えば、濾過、脱色、脱塩、精製した後、例えば濃縮してシラップとするか、さらに噴霧乾燥して粉末を採取することも自由である。

このようにして製造される高純度イソマルトースは、イソマルトースを40%以上含有しており、甘味剤、保湿剤、粘稠剤、照付与剤、老化防止剤、増量剤、賦形剤などとして、各種飲食物、化粧品、医薬等に用いられる他、イソマルチトールの原料としても有利に用いられる。

以下、本発明を実験で詳細に説明する。

#### 実験 原糖液の比較

グルコースを濃度60 w/w %水溶液とし、これに特開昭55-124494号公報に開示される方法で固定化したグルコアミラーゼを加え50℃、pH 4.8で逆合成反応を起させた。

この反応液を経時的にサンプリングした後、45 w/w %に希釈して本実験の原糖液とした。各原糖液の糖組成は第1表に示した。

第 1 表

原糖液 (%)	糖 組 成 (%)		
	グルコース	イソマルトース	イソマルトリオース以上のイソマルトデキストリン
1	98.6	1.1	0.3
2	95.7	3.6	0.7
3	91.1	7.1	1.8
4	83.3	12.7	4.2
5	63.0	25.5	11.5

樹脂は、アルカリ金属型強酸性カチオン交換樹脂（ダウケミカル社製造、商品名ダウエックス 50 W × 4、Na<sup>+</sup>型）を使用し、これを水懸濁液として内径 5.4 cm のジャケット付ステンレス製カラム 1 本に樹脂層長が10 m になるように充填した。カラム内温度を75℃に維持しつつ、原糖液を樹脂に対して5 v/v %加え、これに75℃の温水をSV 0.2の流速で流して分画し、イソマルトース含有量40%以上のイソマルトース高含有画分を採取した。結果は第2表に示した。

第 2 表

原糖液 (%)	原糖液のイソマルトース含量 (%)	イソマルトース高含有画分中のイソマルトース収量(g)	原糖液中のイソマルトースに対する収率 (%)
1	1.1	不可能	不可能
2	3.6	9.9	45.2
3	7.1	32.5	75.3
4	12.7	62.2	80.6
5	25.5	126.2	81.4

④ 不可能とはイソマルトース含有量40%以上のイソマルトース高含有画分が得られなかったことを意味する。

第2表の結果から明らかなように、原糖液はその糖組成をイソマルトース含有量7%以上にすれば、イソマルトース含有量40%以上のイソマルトース高含有画分中にイソマルトースが原糖液イソマルトースに対して70%以上の高収率で採取できることが判明した。

以下、2～3の実施例を述べる。

#### 実施例 1

実験で示した方法で調製したイソマルトース含有量25.5%のグルコース逆合成生成物（濃度45 w/w %）を原糖液とした。樹脂は、アルカリ金属型強酸性カチオン交換樹脂（東京有機化学工業社製造、商品名XT-1022 E、Na<sup>+</sup>型）を使用し、内径 5.4 cm のジャケット付ステンレス製カラムに水懸濁液状で充填した。この際、樹脂層長5 m のカラム 4 本に充填し、その液が直列に流れるようにカラム 4 本を連結して樹脂層全長を20 m とした。

カラム内温度を75℃に維持しつつ、原糖液を樹脂に対して5 v/v %加え、これに75℃の温水をSV 0.13の流速で流して分画し、イソマルトース含有量40%以上のイソマルトース高含有画分を採取した。このイソマルトース高含有画分には、イソマルトースが233 g 含まれ、原糖液中のイソマルトースに対して75.1%の高収率であった。本画分を、常法に従って脱色、脱塩精製し、水分15%のシラップ580 g を得た。本品には、イソマルトース46.4%、イソマルト

有しているも 望ましい。

原糖液の調製に際し、グルコアミラーゼの場合にはグルコースのみならず、マルトース、マルトリオース、水飴、デキストリンなどの澱粉部分加水分解物を、通常、40～80%程度の高濃度水溶液に作用させればよい。

また、 $\alpha$ -グルコシダーゼの場合には、マルトース、マルトリオース、水飴、デキストリンなどの澱粉部分加水分解物を、通常、10～70%程度の糖液に作用させればよい。また、デキストランの部分加水分解物は、例えば、10～50%程度のデキストラン水溶液に酸を作用させた後中和するか、又はデキストラナーゼ(EC 3.2.1.11)又はイソマルトデキストラナーゼ(EC 3.2.1.94)などを作用させれば容易に調製できる。

また、本発明で使用されるアルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂には、例えば、スルフォン基を結合したステレン-ジビニルベンゼン架橋共重合体樹脂の $\text{Na}^+$ 型、 $\text{K}^+$ 型などのアルカリ金属塩型または $\text{Ca}^{++}$ 型、 $\text{Mg}^{++}$ 型などのアルカリ土類金属塩型の1種または2種以

上高含有画分を分離採取するまでに、原糖液が実質的に樹脂層長7m以上と接する方式を採用してもよい。カラムの材質、形状は本発明の目的を達する限り自由に選択できる。その材質は、例えば、ガラス、プラスチック、ステンレスなどが利用でき、その形状は充填した樹脂層内を液が流れるだけ層流になる、例えば、円筒状、角柱状などが適宜利用できる。

以下、本発明の実施方法をより具体的に述べる。アルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂を水に懸濁してからカラムに充填して、その樹脂層の全長が通常7m以上になるようにし、このカラムの温度を通常45～85℃に維持しつつ、これに濃度約10～70 w/w%の原糖液を樹脂に対して約1～60 v/v%加え、これに水をSV約0.1～2.0の流速で上昇法または下降法により流して溶出し、原糖液をイソマルトデキストリン高含有画分、イソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分、イソマルトース高含有画分、イマルトース・グルコース高含有画分、及びグル

コース高含有画分に分離し、40%以上のイソマルトースを含有するイソマルトース高含有画分を採取すればよい。

この際、溶出液の採取は、通常、使用樹脂に対して約1～20 v/v%毎に行なわれるが、これを自動化し前記画分に振り分けることも容易である。

また、原糖液をカラムに流して分画するに際し、既に得られているイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分及びイソマルトース・グルコース高含有画分を原糖液の前後に、または原糖液とともに流すことにより、分画に要する使用水量を減少させ原糖液中のイソマルトースを高純度、高濃度、高回収率で採取できるので好都合である。

一般には、既に得られているイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分を流した後に原糖液を流し、次いで既に得られているイソマルトース・グルコース高含有画分を流すという順序を採用するのが好ましい。このようにして分画し、採取されたイソマルトース高含有画分をそのまま用いることもできるが、必要ならば、常法に従

上が適宜使用され、市販品としては、例えば、ダウケミカル社製造の商品名ダウエツクス50W×2、ダウエツクス50W×4、ダウエツクス50W×8、ローム&ハース社製造の商品名アンバーライトCG-120、東京有機化学工業社製造の商品名XT-1022E、三菱化成工業社製造の商品名ダイヤイオンSK 1B、ダイヤイオンSK 102、ダイヤイオンSK 104などがある。これらの樹脂は、イソマルトース高含有画分の分画に優れているだけでなく、耐熱性、耐摩耗性にも優れ、高純度イソマルトースの大量生産に極めて有利である。

本発明では、通常、0.01～0.5mm程度の粒径の樹脂をカラムに充填して使用すればよい。カラム内に充填する樹脂層の長さは、全長で7m以上が望ましく、この際1本のカラムで7m以上にしても、また、2本以上のカラムを直列に連結して7m以上にしてもよい。

また、必要ならば、7m以下の樹脂層であっても、得られた溶出分画液を溶出順に再度同じ樹脂層に流すことによって、目的とするイソマルト

コース高含有画分に分離し、40%以上のイソマルトースを含有するイソマルトース高含有画分を採取すればよい。

この際、溶出液の採取は、通常、使用樹脂に対して約1～20 v/v%毎に行なわれるが、これを自動化し前記画分に振り分けることも容易である。

また、原糖液をカラムに流して分画するに際し、既に得られているイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分及びイソマルトース・グルコース高含有画分を原糖液の前後に、または原糖液とともに流すことにより、分画に要する使用水量を減少させ原糖液中のイソマルトースを高純度、高濃度、高回収率で採取できるので好都合である。

一般には、既に得られているイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分を流した後に原糖液を流し、次いで既に得られているイソマルトース・グルコース高含有画分を流すという順序を採用するのが好ましい。このようにして分画し、採取されたイソマルトース高含有画分をそのまま用いることもできるが、必要ならば、常法に従

トリオース、 マルトテトラオースなどのイソマルトデキストリンを43.0%含有していた。

#### 実施例 2

デキストランを1規定硫酸に20%になるように溶解し、100℃で60分間保った後、6規定カセイソーダ液で中和し、次いでH型及びOH型イオン交換樹脂で脱塩精製し、濃縮して濃度60w/w%、イソマルトース12.2%を含有する原糖液を調製した。

樹脂は、実施例1に用いたものをK<sup>+</sup>型に変えた後使用し、内径6.2cmのジャケット付ステンレス製カラム1本に樹脂層長が10mになるように充填した。

カラム内温度を60℃に維持しつつ、原糖液を樹脂に対して3v/v%加え、これに60℃の温水をSV0.2の流速で流して分画し、イソマルトース含有量40%以上のイソマルトース高含有画分にはイソマルトースが66.0g含まれ、原糖液中のイソマルトースに対して79.1%の高収率であった。本画分を実施例1と同様に精製、濃縮して、

78.1%の高収率であった。本画分を実施例1と同様に精製、濃縮した後、減圧乾燥、粉砕して、水分1%以下の粉末320gを得た。

本品には、イソマルトース47.7%、イソマルトリオース、イソマルトテトラオースなどのイソマルトデキストリンを20.3%含有していた。

#### 実施例 4

実験で示した方法で調製したイソマルトース含有量25.5%のグルコース逆合成生成物(濃度45w/w%)を原糖液とした。

まず、第1回目の分画に際して、原糖液を樹脂に対して20v/v%使用した以外は実施例1と同様にして分画した。分画品の溶出パターンを第1図に示した。

第1図で、Aはイソマルトデキストリン高含有画分を示し、Bはイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分を示し、Cはイソマルトース高含有画分を示し、Dはイソマルトース・グルコース高含有画分を示し、Eはグルコース高含有画分を示す。その溶出順序はA・B・C・

水分15 シラップ170gを得た。

本品には、イソマルトース43.2%、イソマルトリオース、イソマルトテトラオースなどのイソマルトデキストリンを48.6%含有していた。

#### 実施例 3

水飴を濃度45w/w%水溶液とし、これに実験の方法で調製した固定化グルコアミラーゼを加えて50℃、pH4.8で加水分解し、逆合成反応を起させ、イソマルトース16.5%を含有する原糖液を得た。樹脂は、アルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂(ダウケミカル社製造、商品名ダウエックス50W×4、Mg<sup>++</sup>型)を使用し、実施例1と同じカラムに樹脂層の全長が15mになるように充填した。カラム内温度を55℃に維持しつつ原糖液を樹脂に対して6.6v/v%加え、これに55℃の温水をSV0.13の流速で流して分画し、イソマルトース含有量40%以上のイソマルトース高含有画分を採取した。このイソマルトース高含有画分にはイソマルトースが156g含まれ、原糖液中のイソマルトースに対して

D・Eの順であった。

分画品C(イソマルトース高含有画分)は採取し、分画品A及びEは除去した。

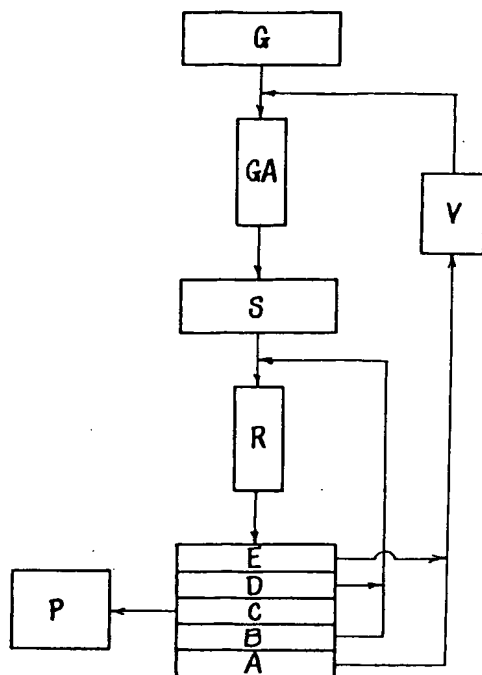
第2回目以降の分画は同じカラムに分画品B、次いで、樹脂に対して約10v/v%の原糖液、分画品Dの順に加え、更に75℃の温水を実施例1と同様に流してイソマルトース50%以上を含有するイソマルトース高含有画分を採取した。

第2回目以降の分画操作を延べ50回繰り返して1回当りの平均結果を求めたところ、イソマルトース高含有画分にはイソマルトースが519g含まれ、原糖液中のイソマルトースに対して83.7%の高収率であった。本画分50回分を集め実施例3と同様に処理して粉末43kgを得た。

本品には、イソマルトース58.4%、イソマルトリオース、イソマルトテトラオースなどのイソマルトデキストリン29.3%を含有していた。なお、前記方法で系外に除去した分画品A及びEを集め濃度約60w/w%に濃縮し、これに固定化グルコアミラーゼを作用させたところ、原糖

昭和56年12月11日

特許庁長官 島 田 春 樹 殿



1. 事件の表示

昭和56年特許願第171179号

2. 発明の名称

高純度イソマルトースの製造方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

岡山県岡山市F石井1丁目2番3号

株式会社林原生物化学研究所

代表者 林 原

林原

4. 補正の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の項

5. 補正の内容

- (1) 明細書第4頁第12行記載の「グルコアミラーゼ」を「グルコアミラーゼまたは酸触媒」に補正します。
- (2) 同頁第13～14行記載の「 $\alpha$ -グルコシダーゼ」を「 $\alpha$ -グルコシダーゼ(トランスグルコシダーゼともいう。)」に補正します。
- (3) 明細書第6頁第16～17行記載の「グルコアミラーゼ(EC 3.2.1.3)」を「グルコアミラーゼ(EC 3.2.1.3)または酸触媒」に補正します。

請求の範囲第(1)、(2)、(3)、(4)、(5)項記載の高純度イソマルトースの製造方法。

- (7) カラム内温度を45～85℃の範囲内に維持することを特徴とする特許請求の範囲第(1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6)項記載の高純度イソマルトースの製造方法。
- (8) イソマルトース含有糖液をカラムに流すに際し、既に得られているイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分及びイソマルトース・グルコース高含有画分とともに流すことを特徴とする特許請求の範囲第(3)、(4)、(5)、(6)、(7)項記載の高純度イソマルトースの製造方法。
- (9) イソマルトース含有糖液をカラムに流すに際し、既に得られているイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分を流した後、イソマルトース含有糖液を流し、次いで既に得られているイソマルトース・グルコース高含有画分を流すことを特徴とする特許請求の範囲第(3)、(4)、(5)、(6)、(7)、(8)項記載の高純度イソマルトースの製造方法。

マルチトールが低カロリー、低う蝕性の甘味物であることが見いだされたことより、原料のイソマルトースを、より高純度で大量、安価に供給しうる製造方法の確立が望まれている。

本発明者等は、高純度イソマルトースの大量生産方法について鋭意研究した。

その結果、原料のイソマルトース含有糖液（以下、単に原糖液と言う。）を、アルカリ金属型またはアルカリ土類金属型強酸性カチオン交換樹脂を充填したカラムに流し、次いで水で溶出し、イソマルトトリオース以上の重合度を有するイソマルトデキストリン（本明細書では、単に、イソマルトデキストリンと言う。）高含有画分、イソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分、イソマルトース高含有画分、イソマルトース・グルコース高含有画分及びグルコース高含有画分の順に分画し、イソマルトース含有量が40%以上のイソマルトース高含有画分を採取することにより、容易に高純度イソマルトースが大量製造しうることを見いだした。

10 イソマルトース含有糖液をカラムに流すに際し、既に得られているイソマルトデキストリン高含有画分及び／又はグルコース高含有画分をグルコアミラーゼで処理しイソマルトース含有糖液に変換して用いることを特徴とする特許請求の範囲第(3)、(4)、(5)、(6)、(7)、(8)、(9)項記載の高純度イソマルトースの製造方法。

### 3. 発明の詳細な説明

本発明は、高純度イソマルトースの製造方法に関する。

イソマルトースは、醗酵食品などに微量存在している低甘味の糖であって、グルコアミラーゼによるグルコースの逆合成反応、 $\alpha$ -グルコシダーゼによるマルトース又はマルトデキストリンからのグルコース転移反応、デキストランの部分加水分解反応などによって固形物当り10～25w/w%（特にことわらない限り、本明細書の%は固形物当りw/w%を意味する。）程度生成することが知られている。

近年、イソマルトースの還元生成物であるイン

また、原糖液をカラムに流して分画するに際し、既に得られているイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分及びイソマルトース・グルコース高含有画分とともに流して分画し、イソマルトース高含有画分を採取し、その前後に得られるイソマルトデキストリン・イソマルトース高含有画分及びイソマルトース・グルコース高含有画分を更に次の原糖液とともに流す方式を採用することにより、目的とする高純度イソマルトースを高濃度、高収率で繰り返し、安定して製造し得ること、更には工業的に安価に大量製造しうることを見だし、本発明を完成した。

本発明に用いる原糖液は、イソマルトースを含有し、本発明によってイソマルトースを40%以上含有する高純度イソマルトースが高収率で採取できるものであればよく、例えば、グルコアミラーゼ（EC 3.2.1.3）によるグルコース逆合成生成物、 $\alpha$ -グルコシダーゼ（EC 3.2.1.20）によるグルコース転移生成物、デキストランの部分加水分解物であって、イソマルトースを7%以上含